

УДК 577.112.3:581.1:631.416.8:546.73

## СОДЕРЖАНИЕ АМИНОКИСЛОТ В РАСТЕНИЯХ ПРИ РАЗНЫХ УРОВНЯХ СОДЕРЖАНИЯ КОБАЛЬТА В ПОЧВЕ<sup>1</sup>

© 2022 г. Г. Я. Елькина

*Институт биологии Коми научного центра УрО РАН  
167982 Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28, Россия*

*E-mail: elkina@ib.komisc.ru*

Поступила в редакцию 25.02.2022 г.

После доработки 27.03.2022 г.

Принята к публикации 16.05.2022 г.

Изучили влияние кобальта на аминокислотный состав однолетних кормовых трав. Установлено, что в ответ на загрязнение почв в растениях увеличилось содержание азота и аминокислот в составе белков. Изменения в содержании аминокислот в овсе начались при содержании подвижного кобальта в почве 10,2, в горохе – 15,1 мг/кг, содержание кобальта в растениях при этом составило 2,5 и 16,6, мг/кг. Загрязнение вызвало рост относительного содержания аспарагиновой кислоты в обеих культурах и глутаминовой кислоты в биомассе овса. При среднем загрязнении кобальтом увеличилось относительное содержание пролина в горохе, в овсе произошло уменьшение его доли.

*Ключевые слова:* аминокислоты, горох, овес, кобальт, почва.

**DOI:** 10.31857/S0002188122080063

### ВВЕДЕНИЕ

Кобальт относится к числу физиологически необходимых элементов для живых организмов. Микроэлемент активно влияет на физиологические процессы в растениях, особенно на азотный обмен. Важен он для жизни клубеньковых бактерий и фиксации ими молекулярного азота [1, 2]. При этом кобальт, как и другие тяжелые металлы (ТМ), в избыточном количестве вызывает ответные негативные реакции в растениях [3].

Ингибирующее действие ТМ связано с их влиянием на метаболические процессы в растениях. При поступлении ионов ТМ в клетки растений начинают функционировать механизмы их детоксикации, включающие в себя связывание ионов различными хелаторами (органическими кислотами, аминокислотами, глутатионом и фитохелатинами, металлотионеинами). Активация защитных ферментов, синтез металлсвязывающих соединений и стрессовых белков приводят к нарушениям в метаболизме азота, увеличивая и снижая его содержание в органах растений в за-

висимости от концентрации токсичного элемента и фазы ответной реакции [2, 4–6].

Изменения в содержании свободных аминокислот под воздействием ТМ свидетельствуют об участии их в синтезе стрессовых белков и отображают адаптивные реакции растительного организма. В качестве ответной реакции на стресс, в том числе и обусловленный ТМ, в растениях активно синтезируется пролин, являющийся полифункциональным стресс-протекторным соединением, направленным на поддержание метаболизма растительного организма на разных стадиях адаптационного процесса [5, 7, 8]. Специфической реакцией на воздействие ТМ является синтез металлсвязывающих соединений, обогащенных тиоловыми (-SH) группами – металлотионеинов и фитохелатинов, образованных с участием цистина [9].

Представленные изменения в содержании свободных аминокислот характерны для конкретного (тестируемого) периода развития растения. Определение аминокислотного состава белков кормовых трав в период уборки позволяет оценить результаты сложных метаболических процессов, выявить суммарный эффект воздействия элемента на синтез аминокислот с учетом изменений в развитии растений. Исследования по влиянию ТМ на аминокислотный состав рас-

<sup>1</sup> Работа выполнена по теме “Криогенез как фактор формирования и эволюции почв арктических и бореальных экосистем Европейского Северо-Востока в условиях современных антропогенных воздействий, глобальных и региональных климатических трендов” (№ 1021051101421-1-1.6.19).

**Таблица 1.** Биомасса растений и выход сырого протеина при возрастающем содержании кобальта в почве

Вариант	Содержание кобальта в почве, мг/кг		Масса одного растения (воздушно-сухая), г		Выход сырого протеина на одно растение, мг	
	валовое	ААБ-вытяжка	горох	овес	горох	овес
Контроль	6.2	0.2	0.36 ± 0.05	0.40 ± 0.04	29.8	35.5
1	15.1	2.5	0.41 ± 0.04	0.47 ± 0.05	30.7	41.8
2	20.1	5.3	0.42 ± 0.04	0.50 ± 0.06	33.4	47.5
3	30.9	9.1	0.41 ± 0.04	0.53 ± 0.04	33.6	52.0
4	32.1	10.2	0.40 ± 0.04	0.52 ± 0.07	34.3	49.4
5	37.5	11.6	0.38 ± 0.03	0.55 ± 0.07	31.0	56.4
6	46.0	15.1	0.35 ± 0.03	0.57 ± 0.07	29.8	59.1
7	48.7	16.1	0.35 ± 0.02	0.59 ± 0.07	31.0	53.8
8	55.3	16.9	0.33 ± 0.03	0.54 ± 0.06	28.7	53.0
9	57.7	19.1	0.31 ± 0.02	0.52 ± 0.05	27.4	50.9
10	65.5	19.1	0.30 ± 0.02	0.50 ± 0.06	26.5	50.6

Примечания. 1. Нумерация вариантов та же в табл. 2. 2. “±” – стандартное отклонение.

тений, кормовую ценность продукции крайне незначительны. Показано увеличение содержания суммы аминокислот главным образом за счет пролина, аспарагиновой и глутаминовой кислот, снижение количества незаменимых аминокислот в зерне ячменя при избытке кадмия [4]. Загрязнение кадмием подзолистых почв приводило к росту содержания азота и аминокислот в составе белков биомассы кормовых культур, увеличению доли глутаминовой кислоты в белках гороха, аспарагиновой кислоты – в белках овса, снижению доли пролина в обоих видах растений [10].

Ранее нами были приведены исследования по влиянию кобальта на продуктивность кормовых трав на подзолистых почвах [11]. В низких концентрациях кобальт оказал стимулирующее действие на рост и развитие кормовых трав, при превышении оптимума происходило ингибирование и гибель растений.

Цель работы – изучение действия возрастающего содержания кобальта в почве на содержание азота и аминокислотный состав наземной массы однолетних трав.

#### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование провели в микрополевым опыте в пригороде г. Сыктывкара на легкосуглинистой пахотной подзолистой почве в условиях искусственного загрязнения [11]. Разные по содержанию кобальта почвы были получены в результате смешивания ранее загрязненной почвы с почвой контроля. Почву весом 10 кг помещали в полиэтиленовые сосуды без дна (диаметр – 20, высота –

30 см), которые зарывали в траншеи. Эксперимент выполнен в четырехкратной повторности. Варианты опыта с различным содержанием кобальта в почве представлены в табл. 1.

В каждый сосуд высевали по 15 семян гороха (*Pisum sativum*) сорта Альбумен и овса (*Avena sativa*) сорта Львовский-82, оставляя впоследствии по 10 растений каждого вида. Отбор растительных проб (надземной биомассы) осуществляли в фазе образования бобов гороха и фазе колошения овса при учете продуктивности. Поскольку кобальт оказывал влияние на прохождение фенологических фаз и развитие репродуктивных органов, сроки уборки и отбора проб устанавливали по развитию растений в контроле.

Азот определяли методом газовой хроматографии на элементном анализаторе EA 1110 (CHNS-0). Относительная погрешность анализа при содержании азота 0.5–2.6% составляла 18.0%, при содержании 2.6–20% – 6.7%. Содержание аминокислот, входящих в состав белков растений, определяли методом жидкостной хроматографии на аминокислотном анализаторе ААА Т 339 М. Относительная погрешность анализа конкретных аминокислот (при  $P = 0.95$ ) приведена в табл. 2. Гидролиз белков осуществляли в концентрированном растворе серной кислоты в запаянной ампуле при  $t = 110^\circ\text{C}$ . Анализы выполняли в аккредитованной экоаналитической лаборатории Института биологии. Методы анализа растительных и почвенных образцов на содержание кобальта приведены в работе [11].

Таблица 2. Влияние кобальта на аминокислотный состав биомассы гороха и овса

Аминокислота	Варианты										Погрешность, %	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9		10
Горох												
Аспарагиновая	0.48/11.1	0.48/10.9	0.52/11.0	0.55/11.3	0.55/11.1	0.55/10.9	0.58/11.0	0.68/11.7	0.72/11.9	0.73/12.2	0.71/11.8	16
Треонин	0.21/4.9	0.21/4.8	0.22/4.6	0.23/4.7	0.23/4.7	0.25/4.9	0.27/5.1	0.32/5.6	0.32/5.3	0.33/5.5	0.34/5.6	16
Серин	0.24/5.5	0.25/5.6	0.27/5.7	0.27/5.6	0.28/5.6	0.28/5.6	0.30/5.8	0.34/5.8	0.36/5.9	0.35/5.8	0.35/5.8	14
Глутаминовая	0.54/12.4	0.55/12.5	0.60/12.7	0.62/12.8	0.63/12.7	0.63/12.4	0.64/12.2	0.70/12.1	0.75/12.4	0.69/11.6	0.71/11.7	13
Пролин	0.38/8.7	0.40/9.1	0.44/9.3	0.46/9.4	0.49/10.0	0.48/9.5	0.52/9.9	0.52/8.9	0.50/8.2	0.53/8.9	0.55/9.1	31
Глицин	0.25/5.8	0.26/5.9	0.27/5.7	0.27/5.5	0.28/5.6	0.28/5.5	0.31/5.8	0.33/5.7	0.34/5.6	0.33/5.5	0.35/5.8	16
Аланин	0.29/6.6	0.28/6.4	0.31/6.6	0.32/6.5	0.31/6.3	0.32/6.3	0.34/6.5	0.35/6.1	0.37/6.0	0.376.2	0.38/6.3	19
Цистин	0.000/0.0	0.000/0.0	0.000/0.0	0.000/0.0	0.002/0.04	0.002/0.04	0.002/0.04	0.002/0.03	0.002/0.03	0.003/0.05	0.003/0.05	
Валин	0.32/7.5	0.31/7.2	0.32/6.7	0.32/6.7	0.33/6.7	0.34/6.8	0.34/6.5	0.40/6.8	0.40/6.6	0.41/6.9	0.41/6.7	14
Метионин	0.005/0.12	0.005/0.11	0.007/0.15	0.005/0.10	0.006/0.12	0.005/0.10	0.007/0.13	0.007/0.20	0.007/0.20	0.005/0.08	0.007/0.20	
Изолейцин	0.21/4.9	0.22/5.0	0.24/5.0	0.24/4.9	0.25/5.2	0.27/5.3	0.28/5.2	0.30/5.2	0.33/5.4	0.32/5.3	0.31/5.2	12
Лейцин	0.35/8.1	0.34/7.8	0.37/7.7	0.39/8.0	0.39/7.9	0.40/8.0	0.44/8.4	0.45/7.8	0.49/8.1	0.49/8.1	0.52/8.6	13
Тирозин	0.22/5.0	0.23/5.3	0.28/5.9	0.27/5.5	0.26/5.3	0.30/6.0	0.29/5.5	0.34/5.9	0.35/5.7	0.32/5.3	0.31/5.1	20
Фенилаланин	0.21/4.8	0.22/5.0	0.21/4.6	0.24/4.9	0.23/4.7	0.25/4.9	0.24/4.5	0.28/4.8	0.29/4.8	0.27/4.5	0.28/4.6	16
Гистидин	0.08/1.9	0.09/2.1	0.09/2.0	0.09/1.9	0.09/1.8	0.10/1.9	0.10/1.8	0.11/1.9	0.12/1.9	0.13/2.2	0.12/2.0	19
Лизин	0.34/7.8	0.34/7.7	0.35/7.4	0.36/7.4	0.38/7.6	0.37/7.3	0.38/7.1	0.43/7.4	0.46/7.6	0.45/7.5	0.45/7.5	16
Аргинин	0.22/4.9	0.21/4.8	0.23/4.8	0.22/4.5	0.23/4.7	0.23/4.5	0.25/4.7	0.25/4.2	0.27/4.5	0.26/4.4	0.24/4.0	19
Сумма	4.35	4.39	4.72	4.82	4.93	5.06	5.27	5.80	6.05	5.98	6.03	
Содержание азота, %	1.21	1.20	1.26	1.31	1.36	1.30	1.36	1.40	1.38	1.40	1.41	10
Содержание кобальта, мг/кг	0.4	1.5	3.8	6.0	8.3	10.8	16.6	16.8	17.2	20.8	22.7	20

Таблица 2. Окончание

Аминокислота	Варианты										Погрешность, %	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9		10
	Овес											
Аспарагиновая	0.85/16.1	0.97/17.5	1.10/19.6	1.10/19.1	1.09/18.7	1.12/19.6	1.20/20.7	1.13/19.8	1.17/20.3	1.18/20.3	1.21/20.6	16
Треонин	0.20/3.8	0.22/4.0	0.22/3.9	0.23/3.9	0.23/4.0	0.22/3.8	0.23/4.0	0.22/3.8	0.23/4.0	0.23/3.9	0.23/4.0	16
Серин	0.21/4.1	0.23/4.1	0.23/4.1	0.25/4.3	0.25/4.2	0.24/4.2	0.23/3.9	0.24/4.2	0.24/4.1	0.24/4.2	0.26/4.4	14
Глутаминовая	0.62/11.6	0.63/11.3	0.67/11.9	0.68/11.9	0.73/12.6	0.74/12.9	0.77/13.3	0.80/14.0	0.81/14.0	0.81/14.0	0.81/13.9	13
Пролин	0.94/17.8	0.87/15.7	0.88/15.7	0.85/14.8	0.87/14.9	0.84/14.7	0.85/14.6	0.82/14.4	0.84/14.5	0.86/14.7	0.85/14.4	31
Глицин	0.22/4.1	0.24/4.3	0.23/4.1	0.24/4.2	0.24/4.1	0.23/4.0	0.23/3.9	0.23/4.1	0.23/4.0	0.23/3.9	0.23/4.0	16
Аланин	0.33/6.3	0.36/6.4	0.35/6.1	0.36/6.2	0.37/6.4	0.34/5.9	0.32/5.5	0.30/5.3	0.33/5.6	0.34/5.8	0.35/5.9	19
Цистин	0.00/0.0	0.00/0.0	0.00/0.0	0.00/0.0	0.00/0.0	0.00/0.0	0.002/0.04	0.002/0.04	0.001/0.04	0.001/0.02	0.001/0.02	14
Валин	0.33/6.3	0.34/6.1	0.34/6.1	0.35/6.0	0.36/6.1	0.35/6.1	0.35/6.0	0.33/5.8	0.34/5.9	0.34/5.8	0.35/6.0	14
Метионин	0.008/0.15	0.003/0.05	0.005/0.09	0.010/0.17	0.009/0.15	0.008/0.14	0.019/0.33	0.008/0.14	0.009/0.16	0.022/0.38	0.007/0.12	12
Изолейцин	0.20/3.8	0.21/3.7	0.20/3.6	0.21/3.7	0.21/3.7	0.20/3.5	0.20/3.5	0.18/3.1	0.15/2.6	0.19/3.2	0.15/2.6	13
Лейцин	0.34/6.4	0.37/6.6	0.30/5.3	0.33/5.7	0.34/5.8	0.35/6.1	0.33/5.7	0.36/6.3	0.36/6.3	0.35/5.9	0.36/6.1	20
Тирозин	0.23/4.4	0.25/4.5	0.23/4.1	0.25/4.4	0.26/4.5	0.24/4.3	0.23/4.0	0.25/4.4	0.24/4.1	0.25/4.3	0.26/4.5	16
Фенилаланин	0.22/4.1	0.24/4.2	0.23/4.1	0.24/4.2	0.25/4.2	0.25/4.4	0.24/4.1	0.23/4.0	0.24/4.1	0.23/3.9	0.22/3.8	19
Гистидин	0.08/1.6	0.10/1.7	0.09/1.6	0.09/1.6	0.09/1.5	0.08/1.4	0.08/1.4	0.08/1.4	0.10/1.6	0.09/1.6	0.08/1.3	16
Лизин	0.27/5.1	0.29/5.2	0.27/4.9	0.29/5.1	0.30/5.1	0.27/4.7	0.28/4.9	0.26/4.6	0.27/4.7	0.27/4.7	0.29/5.0	19
Аргинин	0.23/4.4	0.26/4.7	0.27/4.9	0.27/4.6	0.23/4.0	0.24/4.2	0.25/4.3	0.27/4.7	0.23/4.0	0.20/3.5	0.20/3.5	10
Сумма	5.28	5.55	5.62	5.75	5.82	5.72	5.81	5.69	5.79	5.81	5.86	20
Содержание азота, %	1.36	1.43	1.52	1.56	1.51	1.64	1.67	1.47	1.58	1.57	1.62	
Содержание кобальта, мг/кг	0.22	0.53	1.5	1.8	2.5	3.5	4.5	5.2	7.0	5.9	5.1	

Примечание. Над чертой – содержание, г/100 г воздушно-сухой массы, под чертой – относительное содержание, %.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Валовое содержание кобальта в вариантах опыта изменялось с 6.2 в контроле до 65.5, подвижного (ацетатно-аммонийный буфер (ААБ)) – с 0.2 до 19.1 мг/кг. Стимулирующее действие элемента на растения гороха проявилось при содержании подвижного кобальта 5.3–10.2 мг/кг. В вариантах с большим количеством Со происходило постепенное снижение эффективности действия микроэлемента. Биомасса овса в вариантах с кобальтом превышала контроль на 17–47%. Тенденция к снижению продуктивности злаковой культуры по сравнению с максимальной происходила при содержании подвижного кобальта 19.1 мг/кг (табл. 1). Необходимо отметить, что смоделированные концентрации данного физиологически значимого элемента в эксперименте были выше оптимальных: в варианте 2 количество кобальта, экстрагируемое ААБ (5.3 мг/кг), превысило ПДК, равное 5.0 мг/кг [12].

Под влиянием кобальта в растениях активизировался процесс накопления азота. Количество его в наземной массе гороха (стебли, листья, бобы) увеличилось с 1.21 до 1.41%, овса – с 1.36 до 1.62% (табл. 2) пропорционально росту содержания кобальта в почве. Превышающие относительную погрешность анализа изменения в бобовом растении начались при содержании подвижного кобальта в почве, равном 10.2, в злаковом – 9.1 мг/кг. Содержание кобальта в наземной массе при этом составило соответственно 8.3 и 1.8 мг/кг. Количество азота в горохе положительно коррелировало с содержанием подвижного кобальта в почве ( $r = 0.95$ ,  $P < 0.001$ ), в овсе связи были менее тесные ( $r = 0.71$ ,  $P < 0.001$ ). Близкая зависимость обнаружена также между накоплением азота растениями и транслокацией кобальта в горох ( $r = 0.93$ ,  $P < 0.001$ ) и овес ( $r = 0.61$ ,  $P < 0.01$ ).

Анализ зависимости между формированием биомассы растений и синтезом азотсодержащих соединений показал, что для злакового растения взаимосвязи носили позитивный характер: биомассу овса и содержание в ней азота объединяла положительная корреляция средней силы ( $r = 0.65$ ,  $P < 0.01$ ), между тем как в бобовом растении зависимость была отрицательной ( $r = -0.77$ ,  $P < 0.001$ ). Интенсивный синтез азотистых соединений в горохе продолжался на фоне снижения продуктивности культуры.

Изменения в азотном цикле и продуктивности растений под влиянием кобальта сказались на количестве сырого протеина. Наибольшее его количество в бобовом растении отмечено при содержании подвижного кобальта в почве 5.3–10.2, в

злаковом растении – 9.1–15.1 мг/кг, при большем количестве элемента выход протеина снизился, оставаясь при этом больше контроля.

Нарушение стабильности белкового обмена, вызванное избыточным содержанием кобальта в почве, было ответной реакцией растений на стресс и результатом адаптации к сложившейся экологической ситуации. Изменения обусловлены нарушением процессов поглощения и транспорта азота, включением его в соединения, обеспечивающие защитные реакции растительного организма [5]. Тяжелые металлы могут приводить к увеличению содержания азота и белка в растениях. Показано снижение активности нитратредуктазы в присутствии ТМ и ингибирование процессов восстановления нитратов и накопления нитратного азота в органах растений [4, 6]. Наряду с ростом количества азота отмечали и снижение содержания азота в растениях, ингибирование азотного обмена под влиянием высоких концентраций ТМ [5].

С увеличением количества азота в наземной биомассе растений изменилось содержание практически всех аминокислот. Суммарное их количество в горохе повысилось с 4.35 до 6.03, в овсе – с 5.28 до 5.86 г/100 г. Сумма аминокислот положительно коррелировала с содержанием азота в горохе ( $r = 0.96$ ,  $P < 0.001$ ) и овсе ( $r = 0.71$ ,  $P < 0.001$ ), а также с количеством кобальта как в бобовой ( $r = 0.91$ ,  $P < 0.001$ ) так и злаковой ( $r = 0.81$ ,  $P < 0.001$ ) культуре. При этом связи между величиной биомассы и суммой аминокислот носили иной характер: положительный ( $r = 0.72$ ,  $P < 0.001$ ) для злакового растения и отрицательный – для бобового ( $r = -0.90$ ,  $P < 0.001$ ). Интенсивный синтез аминокислот в горохе, как и азотистых соединений, в целом продолжался при негативных изменениях продуктивной массы растений, обусловленных возрастающим содержанием кобальта в почве.

Увеличение суммарного содержания аминокислот в зерне ячменя под действием ТМ наблюдали и при возделывании на дерново-подзолистой почве. Наиболее существенные изменения при этом были характерны для пролина [4].

Значимые по сравнению с контролем изменения в содержании большинства аминокислот в биомассе гороха начались при содержании подвижного кобальта в почве 15.1 мг/кг, в растениях – 16.6 мг/кг (табл. 2). Содержание глутаминовой кислоты статистически значимо повысилось, начиная с содержания подвижного элемента 9.1 мг/кг. При содержании кобальта в ААБ-вытяжке >16 мг/кг в биомассе гороха в 1.5 раза увеличи-

лось содержание аспарагиновой кислоты, треонина, серина, изолейцина и тирозина, в 1.4 раза – пролина, лейцина и гистидина.

В злаковом растении в большей мере возросло количество аспарагиновой (в 1.4 раза) и глутаминовой (в 1.3 раза) кислот. Значимые изменения содержания аспарагиновой кислоты начались при более низком содержании кобальта в почве (5.3 мг/кг), чем для бобового растения. Доказанное повышение количества глутаминовой кислоты в биомассе овса происходило при содержании кобальта в почве  $>10.2$  мг/кг, что достаточно близко к концентрациям, вызвавшим изменения в содержании аминокислоты в бобовом растении. Также доказано повышение количества серина и снижение – изолейцина, начиная с содержания кобальта в почве 16.1 мг/кг. Изменения в содержании остальных аминокислот в наземной массе овса находились в пределах погрешности, хотя и имели тенденцию к росту по мере повышения количества кобальта в почве. Уровень пролина, являющегося полифункциональным стресс-протекторным соединением [5, 7, 8], в злаковой культуре в отличие от бобовой в вариантах с кобальтом был меньше и составил 87–94% от его содержания в контроле, находясь при этом в пределах погрешности. В целом изменения в содержании аминокислот в биомассе овса были менее существенными, чем в бобовом растении.

С учетом роли метионина и цистина в синтезе металлсвязывающих соединений, необходимо отметить, что при содержании подвижного кобальта в почве 15.1 мг/кг и больше, в злаковом растении до 2-х раз возросло содержание метионина. Начиная с содержания кобальта в почве 10.2 мг/кг (для гороха) и соответственно 15.1 мг/кг (для овса) в биомассе растений был обнаружен цистин. Несмотря на изменения в содержании серосодержащих аминокислот достоверно утверждать о происходящих процессах не позволила примененная методика гидролиза белков, в результате которой возможны потери этих аминокислот. В этом случае можно говорить лишь о тенденции к росту их содержания.

Количественные изменения в содержании преобладающей части аминокислот были пропорциональны увеличившейся их сумме. Изменение относительного количества аминокислот (в % от их суммы) в большей мере, чем абсолютное содержание, позволяет определить участие отдельных из них в синтезе белков и других соединений, связанных с адаптацией растений к создавшимся в связи с загрязнением экологическим условиям. Относительное содержание аминокислот в кормовых культурах также дает

возможность оценить аминокислотный состав белков по питательной ценности.

Биомасса гороха в контроле по сравнению с овсом характеризовалась большим относительным содержанием большинства аминокислот, кроме аспарагиновой кислоты и пролина. В злаковом растении доля аспарагиновой кислоты в 1.5, пролина – в 2.0 раза превышала их количество в бобовом растении.

В бобовой культуре, исходя из относительного содержания аминокислот, преобладали глутаминовая и аспарагиновая кислоты, третье место занимал пролин (табл. 2). Доля глутаминовой кислоты в растениях во всех вариантах была достаточно постоянной и близкой к контролю. Некоторое снижение происходило при содержании кобальта в почве 19.1 мг/кг. Об отсутствии влияния возрастающего содержания кобальта на относительное количество этой аминокислоты можно судить по отрицательной корреляции как с содержанием подвижного кобальта в почве ( $r = -0.71$ ,  $P < 0.001$ ), так и с количеством его в растениях ( $r = -0.81$ ,  $P < 0.001$ ). При этом большим участием глутаминовой кислоты в синтезе белковых соединений характеризовались более продуктивные растения гороха, об этом свидетельствовала тесная положительная корреляция с биомассой ( $r = 0.91$ ,  $P < 0.001$ ).

Относительное содержание аспарагиновой кислоты в горохе с ростом уровня загрязнения и транслокации кобальта в растения повысилось с 11.1 до 12.2%, в большей мере при превышении содержания подвижного кобальта 16.1 мг/кг. Доля ее в составе аминокислот положительно коррелировала как с количеством кобальта в почве ( $r = 0.75$ ,  $P < 0.001$ ), так и в растениях ( $r = 0.75$ ,  $P < 0.001$ ). В связи с тем, что биомасса растений при значительном загрязнении Со была меньше, связи между ее величиной и долей аспарагиновой кислоты имели отрицательный характер ( $r = -0.79$ ,  $P < 0.001$ ).

Рост содержания аспарагиновой кислоты в растениях гороха в ответ на действие кобальта связан с тем, что эта аминокислота является источником азота для синтеза новых аминокислот [13], входящих в состав белков и соединений, способствующих интоксикации ТМ. Аналогичное увеличение доли аспарагиновой кислоты в биомассе гороха вследствие адаптационных процессов происходило и под действием меди и цинка [14, 15].

В противодействии на разные стрессовые явления (в т.ч. и загрязнение ТМ) в клетках растений активно синтезируется свободный пролин,

являющийся одним из компонентов общих (неспециализированных) клеточных защитных систем [5, 7, 8]. В связи с этим важно оценить долю пролина в белках растений. Максимальное относительное содержание пролина в биомассе гороха (9.5–10.0%) было характерно для растений, произраставших при содержании кобальта в почве от 10.2 до 15.1 мг/кг. При большем количестве кобальта доля пролина была близкой к контролю — 8.7% (табл. 2).

Одной из причин, наблюдаемого снижения относительного количества пролина в составе белков при высоком содержании кобальта в почве, могло быть ингибирование его биосинтеза вследствие избыточной транслокации элемента (16.8 мг/кг и более) в органы растений. Происходящие изменения могут быть связаны с различными фазами ответной реакции растительного организма на стресс (фазой адаптации и фазой повреждения), обусловленный ТМ [16]. Дисбаланс между синтезом и деструкцией пролина в результате ответных реакций на загрязнение почвы, на наш взгляд, и обусловил изменения в содержании аминокислоты в бобовом растении при переходе от фазы адаптации в фазу повреждения при высоких концентрациях кобальта в почве.

При содержании кобальта в почве, начиная с 10.2 мг/кг, в горохе активизировался синтез цистина. Доля его в составе белковых соединений положительно коррелировала с наличием кобальта в почве ( $r = 0.87$ ,  $P < 0.001$ ) и в растениях ( $r = 0.88$ ,  $P < 0.001$ ). Относительное количество пролина увеличилось до 0.05%, в то время как в контроле он не был установлен.

Тенденция к возрастанию синтеза цистина обусловлена тем, что ТМ в растениях могут связываться с соединениями, содержащими тиоловые группы, в т.ч. и с замещенным цистеином [17]. Цистеин же в свою очередь образуется в результате восстановления цистина. Синтез металлсвязывающих соединений с тиоловыми (-SH) группами в ответ на избыток ТМ является одним из наиболее специфических механизмов поддержания гомеостаза в растительной клетке [9].

С ростом содержания кобальта в горохе повысилась доля треонина, серина и изолейцина, связи между количеством этих аминокислот и содержанием элемента в почве и растениях имели положительный характер. Наряду с этим, начиная с содержания 5.3 мг Со/кг, уменьшилась доля валина, а при более высоком количестве кобальта в почве — лизина и аргенина, показатели объединяла отрицательная корреляция.

В злаковом растении в ответ на загрязнение наблюдали рост и абсолютного, и относительного содержания аспарагиновой кислоты (табл. 2). Доля ее в составе белковых соединений в биомассе овса увеличилась с 16.1 до 20.3–20.7%, положительно коррелируя с содержанием кобальта в почве ( $r = 0.89$ ,  $P < 0.001$ ) и в растениях ( $r = 0.82$ ,  $P < 0.001$ ). В составе белков продуктивных растений доля этой аминокислоты была более высокой ( $r = 0.76$ ,  $P < 0.001$ ). Возрастание участия аспарагиновой кислоты в синтезе белковых соединений наблюдали также при избытке меди и цинка [14, 15].

Наряду с аспарагиновой в злаковом растении увеличилось относительное содержание глутаминовой кислоты с 11.6 до 14.0% пропорционально росту содержания кобальта в почве ( $r = 0.95$ ,  $P < 0.001$ ) и в биомассе растений ( $r = 0.97$ ,  $P < 0.001$ ). Избыток меди в почве и растениях также вызвал увеличение доли глутаминовой кислоты в биомассе овса [14]. Усиленный ее синтез мог осуществляться за счет возросшей под действием ТМ активности глутаминсинтетазы [18].

Повышенный синтез глутаминовой кислоты в растениях овса, так же, как и аспарагиновой кислоты в обоих растениях был обусловлен их ролью в реакциях переаминирования [13]. Выступая в качестве источника азота, эти аминокислоты поддерживают синтез аминокислот, в том числе и тех, которые входят в состав белков и соединений, способствующих снижению токсичности ТМ. В частности, биосинтез пролина, одной из наиболее важных аминокислот для адаптации растений, осуществляется из глутамина, им же завершается и его деструкция [7, 19].

Относительное содержание пролина в белках овса при содержании кобальта в почве 9.1 мг/кг и больше снизилась с 17.8 до 14.4%, негативно коррелируя с наличием элемента в почве ( $r = -0.83$ ,  $P < 0.001$ ), в растениях ( $r = -0.74$ ,  $P < 0.001$ ) и с величиной биомассы ( $r = -0.86$ ,  $P < 0.001$ ). Уменьшение доли пролина с возрастанием стрессовой нагрузки возможно связано с тем, что содержание кобальта в почве и растениях превысило показатели, обеспечивавшие биосинтез пролина в параметрах, характерных для фазы адаптации.

Как и в бобовом растении в злаковом увеличилась доля цистеина и метионина. При содержании кобальта в почве 15.1–16.9 мг/кг относительное содержание цистина составило 0.03–0.04%. Доля метионина имела тенденцию к увеличению с 0.15 в контроле до 0.3–0.4% при превышении количества кобальта в почве 15.1 мг/кг. Тенденцию к увеличению содержания серосодержащих аминокислот наблюдали и при загрязнении дру-

гими ТМ [10, 14, 15]. Доля остальных аминокислот с повышением загрязнения кобальтом была меньше, их синтез и включение в состав белков в основном было подавлено.

Отсутствие существенных изменений в относительном содержании преобладающей части аминокислот (табл. 2) обусловлены генетической стабильностью аминокислотного состава белков. Непропорциональные изменения в содержании отдельных из них, которые наблюдали, свидетельствовали о вызванных при высоком содержании кобальта в почве и биомассе нарушениях в белковом обмене. Дестабилизация аминокислотного состава связана с экспрессией генов в ответ на стресс, в результате которой в растениях активизируется синтез стрессовых белков и металл-связывающих соединений [2, 5].

Кроме нестабильности синтеза аминокислот и белков вследствие защитно-приспособительных реакций в ответ на загрязнение кобальтом на аминокислотный состав растений повлияли изменения в фенологическом развитии и морфологии растений. Например, в структуре надземной части гороха с ростом концентрации кобальта в почве снизилась доля цветов и бобов. Вследствие изменений в соотношении между вегетативными и репродуктивными органами произошли изменения во фракционном и аминокислотном составе белков продуктивной массы [20].

Одним из важных показателей качества растительной продукции является наличие в белках незаменимых аминокислот. Абсолютное их содержание в биомассе гороха увеличилось с 1.66 до 2.31 г/100 г пропорционально росту содержания кобальта в почве ( $r = 0.94$ ,  $P < 0.001$ ) и растениях ( $r = 0.95$ ,  $P < 0.001$ ). В биомассе овса абсолютное содержание изменялось менее существенно (1.57–1.69 г/100 г). Более высокие показатели имели растения, произраставшие при содержании подвижного кобальта в почве от 9.1–15.1 мг/кг.

Относительное количество незаменимых кислот в наземной массе гороха было более стабильным – 36.2–38.3%. Корреляция между количеством аминокислот, не синтезируемых в животных организмах, и содержанием элемента в почве и растениях была менее значима ( $r = 0.36–0.47$ ,  $P < 0.1$ ), чем для абсолютных величин. Доля незаменимых кислот в биомассе овса была меньше, чем в надземной массе гороха – 27.5–29.9%. Количество их в злаке незначительно снизилось с ростом содержания подвижного кобальта в почве и растениях ( $r = -0.82$ ,  $P < 0.001$ ).

В аминокислотном составе культур, в изменениях, вызванных загрязнением, отразились видо-

вые особенности растений. Надземная масса гороха отличалась более высоким относительным содержанием большинства аминокислот. Обе кормовые культуры в контроле имели достаточно близкое относительное содержание глутаминовой кислоты, на загрязненной кобальтом почве оно было существенно больше в белках злакового растения. Биомасса овса характеризовалась более высоким относительным содержанием аспарагиновой кислоты и пролина: различия по участию этих аминокислот в белках кормовых растений составили соответственно 1.5 и 2.0 раза. Возможно, что с высоким содержанием пролина в составе белков злакового растения в какой-то мере связана его большая толерантность по отношению к кобальту. В результате приспособительных реакций, обусловленных избытком кобальта, доля аспарагиновой кислоты в биомассе овса увеличилась в большей мере, чем в горохе. Доля пролина при загрязнении в злаковой культуре снизилась, в бобовой – повысилась.

Анализ аминокислотного состава белков кормовых трав позволил оценить результаты сложных процессов метаболизма азота, белковых соединений, выявить суммарный эффект воздействия кобальта на синтез аминокислот с учетом изменений в развитии растений, а также оценить качество растительной продукции.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что кобальт оказал значительное влияние на метаболизм азота в кормовых культурах, приводя в результате приспособительных реакций к росту содержания азота и суммы аминокислот. Интенсивность процессов определяли уровень загрязнения металлом и специфика культур. Количественные изменения в содержании преобладающей части аминокислот были пропорциональны увеличившейся их сумме. Вместе с тем в ответ на стресс произошел рост относительного содержания аспарагиновой в обеих культурах и глутаминовой кислоты в биомассе овса, снижение доли пролина в составе белковых соединений злаковой культуры. Более высокое содержание пролина отмечено в биомассе гороха при среднем загрязнении кобальтом. Значительного изменения количества незаменимых аминокислот в пределах изученных концентраций не произошло.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ягодин Б.А. Кобальт в жизни растений. М.: Наука, 1970. 343 с.



2. *Кабата-Пендиас А., Пендиас Х.* Микроэлементы в почвах и растениях. М.: Мир, 1989. 439 с.
3. *Рак М.В., Пукалова Е.Н.* Кобальт в почвах и растениеводческой продукции Беларуси и эффективность применения кобальтовых удобрений // Почвоведение и агрохимия. 2016. № 2(57). С. 90–99.
4. *Черных Н.А., Милащенко Н.З., Ладонин В.Ф.* Экологическая безопасность и устойчивое развитие. Кн. 5. Экотоксикологические аспекты загрязнения почв тяжелыми металлами. Пушино: ОНТИ ПНЦ РАН, 2001. 148 с.
5. *Титов А.Ф., Казнина Н.М., Таланова В.В.* Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: Карел. НЦ РАН, 2014. 194 с.
6. *Бабкин В.В., Завалин А.А.* Физиолого-биологические аспекты действия тяжелых металлов на растения // Химия в сел. хоз-ве. 1995. № 5. С. 17–21.
7. *Кузнецов В.В., Шевякова Н.И.* Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. 1999. Т. 46. № 2. С. 321–336.
8. *Серёгин И.В., Иванов В.Б.* Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения // Физиология растений. 2001. Т. 48. № 4. С. 606–630.
9. *Серегин И.В.* Фитохелатины и их роль в детоксикации кадмия у высших растений // Усп. биол. химии. 2001. Т. 41. С. 283–300.
10. *Елькина Г.Я.* Влияние разных уровней загрязнения почвы кадмием на содержание аминокислот в растениях // Агрохимия, 2014. № 5. С. 72–78.
11. *Елькина Г.Я.* Кобальт в системе почва–растение на подзолистых почвах Европейского Северо-Востока России // Агрохимия. 2021. № 7. С. 75–82.
12. Предельно допустимые концентрации (ПДК) и ориентировочно допустимые концентрации (ОДК) химических веществ в почве // Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 1.2.3685–21 “Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания”. М., 2021. С. 389–391.
13. *Власюк П.А., Шкварук Н.М., Санатый С.Е., Шамотиенко Г.Д.* Химические элементы и аминокислоты в жизни растений и человека. Киев: Наукова думка, 1974. 220 с.
14. *Елькина Г.Я.* Содержание аминокислот в растениях при разных уровнях содержания меди в почве // Агрохимия. 2018. № 12. С. 88–96.
15. *Елькина Г.Я.* Влияние различного содержания цинка в почве на аминокислотный состав биомассы кормовых трав // Агрохимия. 2020. № 4. С. 57–65.
16. *Селезнева Е.М., Гончарова Л.И., Белова Н.В.* Влияние кадмия на некоторые морфофизиологические и биохимические показатели ячменя // Агрохимия. 2008. № 4. С. 82–86.
17. *Дубинина Ю.Ю., Дульцева Г.Г., Палесский С.В., Скубневская Г.И.* Изучение химической природы защитной реакции растений на избыточное содержание кадмия в почве // Экол. химия, 2003. № 12. С. 41–46.
18. *Astolfi S., Zuchi S., Passera C.* Effect of cadmium on the metabolic activity of *Avena sativa* plants grown in soil or hydroponic culture // Biol. Plant. 2004. V. 48, № 3. P. 413–418.
19. *Wang Z., Yuan Y., Ou J., Lin Q., Zhang C.* Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase contribute differentially to proline accumulation in leaves of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings to different salinity // J. Plant Physiol. 2007. V. 164. P. 695–701.
20. *Измайлов С.Ф.* Азотный обмен в растениях. М.: Наука, 1986. 320 с.

## Content of Amino Acids in Plants at Different Levels of Cobalt in the Soil

G. Ya. El'kina

*Institute of Biology, Komi Science Center, Ural Branch, RAS  
ul. Kommunisticheskaya 28, Syktyvkar 167982 Russia*

*E-mail: elkina@ib.komisc.ru*

The effect of cobalt on the amino acid composition of annual grasses has been studied. It has been found that the contents of nitrogen and amino acids in proteins increase in response to the contamination of soil with cobalt. Changes in amino acid content in oats begin at the mobility cobalt contents in the soil of 10.2 mg/kg, in peas 15.1 mg/kg respectively; the content of cobalt in plants reaches 2.5 и 16.6 mg/kg respectively. Contamination causes an increase in the relative content of aspartic acid in both plants and glutamic acid in oats proteins. Contamination of middle level causes an increase relative content in pea proteins and decrease in the oats proteins

*Key words:* amino acids, plants, cobalt, soil.